Lane Medical Library
STANFORD UNIVERSITY
MAR
24
1938
LIBRARY

Aus dem Chemischen Laboratorium (Priv.-Doz. Dr. W. Schuler)
der Medizin. Klinik Erlangen (Direktor Professor R. Greving)
Die Arbeit wurde noch unter dem Direktorat von Prof. L. R. Müller durchgeführt

1936

Ueber Hämoglobinabbau und Bilirubinsynthese.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

Vorgelegt von

Fritz Meyer

aus Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung: 29. September 1936.

Erlangen 1936.
Buchdruckerei Karl Döres, Erlangen, Jägerstraße 3.

1937/186

Referent: Privatdozent Dr. med. Werner Schuler.
Dekan: Geheimrat Prof. Dr. Jamin.

Meinen lieben Eltern.

Einteilung.

A. Allgemeiner Teil:

I. Bisher bekannte Versuche über den Hämoglobinabbau.

II. Zusammenhang zwischen Hämoglobinabbau und Bilirubin bildung. Bilirubinbildung eine Ausscheidungssynthese?

B. Besonderer Teil:

I. Versuche über den Hämoglobinabbau mit Organbreien.

II. Versuche zum Nachweis der Abbauprodukte.

III. Versuche über den Hämoglobinabbau mit überlebende Gewebsschnitten.

IV. Versuche zum Nachweis der Abbauprodukte.

V. Versuche aus abgebautem Hämoglobin mit überlebende Gewebsschnitten Bilirubin aufzubauen.

C. Versuchsteil.

D. Schrifttum.

A. Allgemeiner Teil.

Die für den Blutfarbstoffwechsel sehr wichtige Frage des physiolcgischen Abbaus von Hämoglobin im Zusammenhang mit der Entstehung des Bilirubins ist bis heute noch nicht entschieden. Man hat weder den Ort des Hämoglobinabbaues sicher feststellen können, noch ist uns der Weg bekannt, den die Entstehung des Bilirubins aus Hämoglobin bzw. seinen Abbauprodukten beschreitet. Man hat vielfach versucht, durch Untersuchungen am Gesamtorganismus, mit Kleinlebewesen, mit Gewebskulturen, mit Organbreien, sowie -extrakten, den Abbau des Blutfarbstoffes zu studieren.

So konnte L. Asher (1) feststellen, daß Milzextrakt Hämoglobin abzubauen vermag. Leber- und Milzextrakt ergaben einen stärkeren Abbau. Leberextrakt allein baute wiederum mehr Hämoglobin ab als Milzextrakt.

Weitere Versuche von Calva-Criado (2) ergaben bei Messung der Absorptionsspektren von Extrakten aus Leber, sowie Haut, daß diese Extrakte einen stärkeren Hämoglobinabbau bewirkten als Lungen-, Nieren- und Muskelextrakte. Ferner zeigten Leber und Milz zusammen einen stärkeren Abbau als die Summe der einzelnen Organextrakte.

Mit Leberbrei behaupten H. Th. Schreus und C. Carrič (3) aus Hämoglobin durch Fermentwirkung Protoporphyrin und einen grünblauen, gallenfarbstoffähnlichen Körper erhalten zu haben. Dabei wurde festgestellt, daß Katalase eine deutliche Abschwächung der Farbstoffbildung hervorrief.

In Gewebskulturen will E. v. Balogh (4) nach Zusatz von Hämoglobin mit dem van den Bergh'schen Diazoreagenz Bilirubin mikrochemisch nachgewiesen haben. Besonders in Hb-haltigen Milzgewebsexplantaten von 18 tg. Hühnerembryonen und braunen Fröschen habe er nach Bebrütung Gallenfarbstoff gefunden. Außer Milz ergaben auch Gehirn und Rückenmarksgewebskulturen der beiden Tiere Bilirubinbildung. Kulturen von Meerschweinchen-

Milz, -Iris und -Nebennierenmark zeigten ebenfalls Gallenfarbstoffbildung.

R. Duesberg (5) machte Versuche über Hämoglobin- und Hämatinabbau nach Injektion dieser Stoffe in die Blutbahn und in Trans- und Exsudate. Dabei stellte er fest, daß nach Injektion von Hämoglobin in die Blutbahn eine Erhöhung des Bilirubinspiegels eintrat. Bei Hämatininjektion konnte keine deutliche Vermehrung des Gallenfarbstoffgehaltes gefunden werden. In Exsudaten ging die Umwandlung von Hämoglobin zu Bilirubin rascher und in größerem Ausmaße vor sich als in Transsudaten. Bei Versuchen am Organismus mit Leberparenchymschädigung trat bei Hämoglobinbelastung neben Bilirubin auch Hämatin auf. Bilirubinbildung und Hämatinbildung sollen aber zwei verschiedene Wege des Hämoglobinabbaues darstellen, da eine Bilirubinentstehung aus Hämatin nicht nachgewiesen werden konnte. Duesberg kommt zu dem Schluß, daß beim Umbau des Hämoglobins zu Bilirubin Hämatin als Zwischenstufe nicht notwendig ist. Er schreibt weiter: „Unter physiologischen Verhältnissen wird das im Körper frei gelöste Hämoglobin offenbar quantitativ in Bilirubin verwandelt (sowohl innerhalb der Blutbahn, als auch an Orten, die keine direkte vasale Verbindung mit der Leber besitzen)."

K. Bingold (6) c. s. fand, daß Blut, welches vorher von Katalase befreit wurde, durch Wasserstoffperoxyd bzw. durch Bakterien, die Wasserstoffperoxyd bilden, weitgehendst abgebaut wird. Nach Entfernung des Katalaseschutzkomplexes geht der Blutfarbstoffabbau so rasch, daß die von früher bekannten Intermediärkörper wie Hämatin, Methämoglobin, Bilirubin, Porphyrin usw. nicht nachweisbar sind. Das Ergebnis von Schreus und Carrié, daß Katalase eine deutliche Hemmung des Hämoglobinabbaues hervorruft, steht mit den Ergebnissen Bingolds in Einklang.

Nach all diesen Versuchen läßt sich nicht mit Sicherheit sagen, in welchen Organen der Hämoglobinabbau zustande kommt und noch weniger wissen wir über den Ort und den Mechanismus der Bilirubinentstehung aus Hämoglobin.

Daß Blutfarbstoff in Bilirubin umgewandelt werden kann, steht fest (R. Virchow [7]). Nach der Theorie von O. Minkowski und B. Naunyn (8) spaltet nur die Leberzelle den Hämatinanteil vom Globin, das Eisen vom Hämatin und verwandelt den Rest in Gallenfarbstoff. Die beschriebenen Versuche, sowie klinische Erfahrung zeigen, daß Bilirubin auch in anderen Organen z. B. in der Milz gebildet werden kann.

Nach L. Aschoff (9) und anderen Autoren sollen die gallenfähigen Substanzen in den Geweben, im Blut außerhalb der Leberzellen gebildet werden.

L. Heilmeyer (10) behauptet, daß der Vorgang der Bilirubinbildung sich überall im Gewebe vollziehen könne, wo Blutfarbstoff aus der Blutbahn austritt, und zwar unter dem Einfluß besonderer oxydierender Zellfermente. Scharf zu trennen sei davon die Frage nach der physiologischen Gallenfarbstoffbildung. Dabei spiele zweifellos die Milz, in der das Blut eine physiologische Extravasation erfährt, eine führende Rolle. Daß in der Milz Bilirubin gebildet wird, steht nach E. Lauda (11) fest. Nach Heilmeyer kommen außerdem für die physiologische Bilirubinbildung die Kupffer'schen Sternzellen der Leber und vielleicht auch das Reticuloendothel des Knochenmarks in Frage, während die eigentlichen Leberzellen selbst nur Ausscheidungsorgane für das im reticuloendothelialen System gebildete Bilirubin darstellen.

Neben der Frage des Ortes der Bilirubinbildung ist die Frage nach dem Mechanismus der Bilirubinbildung noch weniger entschieden. Nach Heilmeyer entsteht das Bilirubin sofort aus dem Hämoglobin, ohne die Zwischenstufen der Porphyrine zu durchlaufen.

Dieser Ansicht stehen die von Fr. v. Müller (12) und H. Fischer (13) gegenüber, welche annehmen, daß Hämoglobin erst abgelaut werden muß und aus diesen Abbauprodukten Bilirubin neu synthetisiert wird.

Die Ergebnisse der Arbeiten von Bingold, welcher fand, daß unter bestimmten Bedingungen eine rasche, weitgehendste Aufspaltung schon am unveränderten Hämoglobin eintreten kann, berechtigen ebenfalls zu obiger Annahme. Auch Duesberg stellte, wie oben erwähnt, fest, daß beim Umbau des Hämoglobins zu Bilirubin das Hämatin keine notwendige Zwischenstufe sei. Auch gelang es ihm nicht aus Hämatin auf physiologischem Wege Bilirubin darzustellen, was ihn annehmen ließ, daß Hämatinbildung und Bilirubinbildung zwei verschiedene Wege des Hämoglobinabbaues darstellen.

Es besteht also die Möglichkeit, daß der Blutfarbstoff erst zu irgendwelchen farblosen Spaltprodukten abgebaut wird und daß Bilirubin in verschiedenen Organgeweben des Körpers aus diesen Abbauprodukten in Form einer Ausscheidungssynthese (wie z. B. Harnstoff) neu synthetisiert wird.

Die mir gestellte Aufgabe war, mit Organbreien und vor allem mit überlebenden Gewebsschnitten, wie sie W. Schuler und W. Reindel für ihre Untersuchungen über Synthesen im tierischen Organismus verwenden, zu prüfen, welche Organe die Fähigkeit haben, Hämoglobin abzubauen bzw. Bilirubin aus Hämoglobin bzw. dessen Abbauprodukten zu bilden.

B. Besonderer Teil.

I.

Versuche über den Hämoglobinabbau mit Organbreien.

Die zu den Versuchen verwandten Organe stammten von Meerschweinchen. Sofort nach der Tötung der Tiere wurden die Organe vom anhaftenden Bindegewebe befreit, in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und dann mit dem Rasiermesser ganz fein zu einem Brei zerwiegt. In sterilen Kölbchen mit eingeschliffenen Stöpseln wurden die genau abgewogenen Breimengen mit den verschiedenen Lösungen versetzt. Man ließ die Organbreie auf Hämoglobinlösung (Rind) (Verdünnung mit Krebslösung bzw. Phosphatpuffer pH 7,4) und auf Krebslösung bzw. Phosphatpuffer allein einwirken.

Folgende Versuche wurden angesetzt:

1. Kontrollversuch: Hämoglobinlösung ————
2. Leerversuch: Krebslösung + Organbrei.
3. Vollversuch: Hämoglobinlösung + Organbrei.

Der mit dem Zeiß'schen Stufenphotometer gemessene Absorptionswert von 3. wurde dann mit der Summe der Absorptionswerte von 1. und 2. verglichen. Versuch 2. war nötig, um den Fehler auszuschalten, der durch den Blutgehalt der Organe entstanden wäre. Der Hämoglobinkontrollversuch war wiederum notwendig, da die Hämoglobinlösung, zu Beginn des Versuches gemessen, andere Werte ergab, als nach 24 Std. Versuchsdauer.

Gleiche Breimengen wurden mit gleichen Mengen Flüssigkeit versetzt und zunächst kurze Zeit im Thermostaten bei 38° geschüttelt, dann bei der gleichen Temperatur 24 Std. stehen lassen. Nach dieser Zeit wurden 1., 2. und 3. abfiltriert und die klaren Lösungen in einer Schichtdicke von 1 cm im Zeiß'schen Stufenphotometer abgelesen.

Die Versuche ergaben zunächst recht verschiedene Resultate. Je nachdem es gelungen war, die Organbreie mehr oder weniger steril in die Kölbchen zu bringen, zeigten sich Fäulniserscheinungen in geringerem oder stärkerem Maße. Bald war ein Hämoglobin-

abbau, bald eine Zunahme feststellbar. In anderen Versuchen war das Hämoglobin gleich geblieben. Erst als alle Versuche mit Toluol überschichtet wurden, konnte einwandfrei und reproduzierbar ein Hämoglobinabbau festgestellt werden.

Ein Hämoglobinabbau wurde bei Breiversuchen mit Leber, Milz und Niere, sowie bei Kombinationen dieser Breie festgestellt. Bei den Versuchen mit Leber und Milz konnte im Vergleich zu Leber bzw. Milz allein kein wesentlicher Unterschied im Hämoglobinabbau festgestellt werden.

II.

Versuche zum Nachweis von Hämoglobinabbauprodukten mit Organbreien.

Der Nachweis von Urobilinogen in den verschiedenen Lösungen gelang erst nach Behandlung der Ansätze mit Pepsin-Salzsäure im Thermostaten. Nach dieser Behandlung konnte Urobilinogen in fast allen Ansätzen mit Urobilinogenreagenz mehr oder weniger stark positiv nachgewiesen werden. Bei der Messung im Stufenphotometer ergab sich jedoch lediglich ein Urobilinogenabbau.

Urobilin konnte nicht nachgewiesen werden.

Bei Bilirubin konnte in allen Versuchen, sowohl ohne, als auch nach Behandlung mit Pepsin-Salzsäure, nur der stattgefundene Abbau festgestellt werden.

III.

Versuche über den Hämoglobinabbau mit überlebenden Gewebsschnitten.

Wie bei den Breiversuchen wurden Organe von frisch getöteten Meerschweinchen verwendet. Mit dem Rasiermesser wurden die vorher gereinigten Organe in etwa 1 mm dicke Schnitte zerlegt. Auf einer Torsionswaage wurden entsprechende Mengen Gewebsschnitte abgewogen und nach Einleiten von Sauerstoff in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Dann wurden die Schnitte wie vorher die Organbreie in die entsprechenden Kölbchen gebracht. Nach nochmaligem Einleiten von Sauerstoff in die Kölbchen wurden diese dann im Thermostaten bei 38° 3 Std. lang geschüttelt. Es wurden ebenfalls je ein Vollversuch, Leerversuch und Hämoglobinkontrollversuch angesetzt.

Bei den Schnittversuchen ergaben sich, im Gegensatz zu den Breiversuchen, Schwierigkeiten, die Lösungen zum Messen im Stufenphotometer klar zu bringen. Da die Ansätze je nach den verschiedenen Organen bald klar, bald trüb waren, ergaben sich

Fehler beim Ablesen der Absorptionswerte. Durch Ausschütteln der abfiltrierten Ansätze mit Toluol bzw. mit geringen Mengen Kieselgur, gelang es die Lösungen zu klären; daraufhin konnte bei allen angewandten Organschnittansätzen einwandfrei ein Hämoglobinabbau festgestellt werden.

Die Organe wurden allein und in folgender Kombination untersucht: Leber / Milz / Niere / Leber + Milz / Leber + Niere / Leber + Milz + Niere / Milz + Niere. Bei allen Versuchen wurde Hb abgebaut, ohne daß sich bei Organkombinationen ein stärkerer Hämoglobinabbau, als der Summe der Einzelorgane entspricht, nachweisen ließ.

IV.

Versuche zum Nachweis von Hämoglobinabbauprodukten mit überlebenden Gewebsschnitten.

Urobilinogen konnte ebenfalls wieder nach Vorbehandlung der Ansätze mit Pepsin-Salzsäure nachgewiesen werden. Im Stufenphotometer ergab sich in Versuchen mit Milz bzw. in Kombinationsversuchen mit Milz ein Urobilinogenabbau, mit anderen Organen dagegen eine Vermehrung des Urobilinogens.

Urobilin konnte nicht festgestellt werden.

Bilirubin konnte in mehreren Versuchen mit Milz nach Vorbehandlung mit Pepsin-Salzsäure gering vermehrt gefunden werden.

Bei den übrigen Organen konnte nur eine Verminderung des Bilirubins festgestellt werden.

V.

Versuche aus abgebautem Hämoglobin mit überlebenden Gewebsschnitten Bilirubin aufzubauen.

Da die Ansicht ausgesprochen wurde, daß das Bilirubin vielleicht erst aus irgendwelchen farblosen Abbauprodukten des Hämoglobins synthetisiert wird, wurden Versuche mit Hämoglobinlösungen angestellt, die nach Erwärmen auf 70° mit 3 % Wasserstoffperoxyd entfärbt worden waren (Bingold).

Bei Behandlung dieser Lösungen mit Milz zeigte sich eine geringe Bilirubinzunahme. Dabei spielte Zusatz verschieden großer Lebermengen zum Milzversuch keine Rolle.

Mit Knochenmark konnte keine Bilirubinveränderung bei entsprechenden Versuchen nachgewiesen werden.

Sowohl bei den Brei- als auch bei den Gewebsschnittversuchen zeigte sich, daß Leber, Milz und Niere imstande sind, Hämoglobin abzubauen. Ebenso verhielten sich Lunge und Peritonaeum.

Milzgewebsschnitte sind in der Lage, aus Hämoglobinlösung, wenn auch nur geringe Mengen Bilirubin (oder einen ähnlichen Körper) zu bilden, während eine solche Bilirubinbildung mit Leber nicht nachzuweisen war. Da außerdem Milzgewebe befähigt ist, aus farblosen, durch Behandlung von Hämoglobin mit 3 % Wasserstoffperoxyd erhaltenen Abbauprodukten Bilirubin zu bilden, dürften vielleicht in der Milz zum Teil ähnliche farblose Abbauprodukte des Hämoglobins auf physiologischem Wege entstehen, aus denen dann erst das Bilirubin aufgebaut wird. Nach Fr. v. Müller soll ja in der Milz ein Leukoprodukt entstehen, das dann in der Leber in das gelbe Bilirubin umgewandelt wird.

C. Versuchsteil.

I.

Methodisches.

Herstellung der Hämoglobinlösung nach R. Nothaas und F. Widenbauer (14).

Rinderschüttelblut wurde dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, indem jeweils das Serum abzentrifugiert und physiologische Kochsalzlösung zugegeben wurde. Der so gewonnene Erythrocytenbrei wurde mit destilliertem Wasser auf das frühere Volumen aufgefüllt und so hämolysiert. In einem Glaskolben wurde dann der hämolysierte Blutkörperchenbrei in einer Kältemischung auf 0° abgekühlt, mit $^1/_2$ seines Volumens Aether versetzt und bei 0° 5 Minuten lang tüchtig geschüttelt. Dann wurde abzentrifugiert und das obenauf schwimmende Stroma der Blutkörperchen abgesaugt. Die übrige klare, dunkelrote Flüssigkeit wurde im Eisschrank aufbewahrt.

Quantitative Bestimmnng des Bilirubins
nach Hiymans van den Bergh.

Diazo I: 5 g Sulfanilsäure + 1,5 ccm conc. HCl zu 1000
Diazo II: 0,5 % $NaNO_2$
10 ccm Diazo I + 0,1 ccm Diazo II
2 ccm Serum (Ansatzlösung) + 0,5 Coff. natr. benz. 50 % + 1 ccm Diazomischung.
Nach 5—10 Minuten + 6,7 ccm Alkohol. Nach 1 Minute filtrieren.

Zu 4 ccm des Filtrates 0,4 ccm conc. HCl und sofort im Stufenphotometer mit Filter S 57 bei 1 cm Schichtdicke gegen Alkohollösung gemessen.

II.

Versuche.

Breiversuche.

Vers. 1: 15 ccm Phosphatpufferlösung pH 7,4; Zeit: 24 Std. Temp. 38°;
L = 5000 mg Leberbrei; M = 300 mg Milzbrei;
Hb = Hämoglobin.

	Organ	Zusatz	mg% Hb-Gehalt nach Versuch	Hb-Zunahme in mg%	Bemerkungen
1	o	Hb	1,143		
2	L	—	0,432		
3	L	Hb	1,699	+0,124	Fäulnis
1	o	Hb	1,143		
2	L	Toluol	0,301		
3	L	Hb + Tol.	1,155	—0,289	
1	o	Hb	1,143		
2	L + M	—	0,552		
3	L + M	Hb	1,796	+0,101	Fäulnis
1	o	Hb	1,143		
2	L + M	Toluol	0,284		
3	L + M	Hb + Tol.	1,222	—0,205	

Aus obigem Versuch ist der störende Einfluß der Fäulnis deutlich zu sehen. Nach Unterbindung der Fäulniserscheinungen durch Toluol zeigt sich einwandfrei ein Hämoglobinabbau.

Vers. 2: 15 ccm Krebslösung pH 7,2; Zeit: 24 Std. Temp. 38°;
L = 5000 mg Leberbrei; M = 300 mg Milzbrei;
N = 1000 mg Nierenbrei; Hb = Hämoglobin.

	Organ	Zusatz	mg% Hb-Gehalt nach Versuch	Hb-Zunahme in mg%	Urobilinogen ohne HCl Peps.	Urobilinogen mit 0,05 30% HCl + 200 mg P.
1	o	Hb+Tol.	0,357		—	—
2	L	Tol.	0,638		—	+
3	L	Hb+Tol.	0,903	—0,092	—	+
1	o	Hb+Tol.	0,357		—	—
2	M	Tol.	0,187		—	(+)
3	M	Hb+Tol.	0,248	—0,296	—	(+)
1	o	Hb+Tol.	0,357		—	—
2	L+M	Tol.	0,745		—	(+)
3	L+M	Hb+Tol.	0,991	—0,111	—	+
1	o	Hb+Tol.	0,357		—	—
2	L+N	Tol.	0,854		—	+
3	L+N	Hb+Tol.	1,071	—0,140	—	+
1	o	Hb+Tol.	0,357		—	—
2	L+M+N	Tol.	0,939		—	+
3	L+M+N	Hb+Tol.	1,155	—0,141	—	+

Obiger Versuch zeigt bei allen Organkombinationen einen einwandfreien Hb-Abbau. Da Urobilinogen erst nach Vorbehandlung mit Pepsin-Salzsäure nachweisbar wird, scheint es an eine Eiweißkomponente gebunden zu sein.

Vers. 3: 15 ccm Krebslösung pH 7,2; Zeit: 24 Std. Temp. 38°;
L = 5000 mg Leberbrei; M = 300 mg Milzbrei;
N = 1000 mg Nierenbrei.

	Organ	Zusatz	mg% Urobilinogen nach Versuch	Ug-Zunahme in mg%
1	o	Hb+Tol.	0,168	
2	L	Tol.	0,268	
3	L	Hb+Tol.	0,276	—0,063
1	o	Hb+Tol.	0,168	
2	N	Tol.	0,244	
3	N	Hb+Tol.	0,292	—0,023
1	o	Hb+Tol.	0,168	
2	M	Tol.	0,268	
3	M	Hb+Tol.	0,244	—0,095
		0,05 HCl. 30% 200 mg Pepsin 1,0 Ug-Reag.	0,097	

Nach Berücksichtigung des Absorptionswertes für HCl-Pepsin + Urobilinogenreagenz ergeben sich die Werte für die Ug-Zunahme.

Bei dem Versuche, das Urobilinogen im Stufenphotometer zu messen, zeigte sich in allen Versuchen eine Abnahme des Urobilinogens. Urobilin konnte weder vor noch nach Behandlung mit HCl-Pepsin nachgewiesen werden. Nach Heilmeyer muß eine ander-

weitige Urobilinentstehung als im Darm nach den neuesten Untersuchungen in Abrede gestellt werden.

Vers. 4: 15 ccm Krebslösung pH 7,2; Zeit: 24 Std. Temp. 38 °;
L = 5000 mg Leberbrei; M = 300 mg Milzbrei;
Hb = Hämoglobin.

	Organ	Zusatz	mg % Bilirubin nach Versuch	Bilirubinzunahme in mg %
1	o	Hb+Tol.	0,1595	
2	L	Tol.	0,2310	
3	L	Hb+Tol.	0,3080	—0,0825
1	o	Hb+Tol.	0,1595	
2	L+M	Tol.	0,2310	
3	L+M	Hb+Tol.	0,3300	—0,0605

Sowohl mit Milz als auch ohne zeigt sich Bilirubinabnahme.

Versuche mit überlebenden Gewebsschnitten.

Die Organgewebsschnitte wurden wie oben beschrieben behandelt und 3 Std. lang im Thermostaten bei 38 ° geschüttelt. Nach dieser Zeit wurden 2 ccm der Lösung zur Bilirubinbestimmung, 5 ccm zur Urobilinogenbestimmung und der Rest zur Hämoglobinbestimmung verwendet. Zu diesem Zwecke mußte der Rest mit Toluol bzw. Kieselgur geklärt werden.

Vers. 5: 12 ccm Krebslösung pH 7,2; Zeit: 3 Std. Temp. 38 °;
L = 500 mg Leber-; M = 210 bzw. 190 mg Milz-;
N = 500 mg Nierengewebsschnitte; Hb = Hämoglobin.

	Organ	Zusatz	Hb mg %	Zunahme	Ug mg %	Zunahme	Bilir. mg %	Zunahme
1	o	Hb	0,280		0,111		0,1375	
2	L	—	0,094		0,168		0,0440	
3	L	Hb	0,237	—0,137	0,194	+0,012	0,1595	—0,0220
1	o	Hb	0,280		0,111		0,1375	
2	M (210)	—	0,071		0,114		0,0440	
3	M (210)	Hb	0,256	—0,095	0,131	+0,003	0,2090	+0,0275
1	o	Hb	0,280		0,111		0,1375	
2	N	—	0,092		0,153		0,0220	
3	N	Hb	0,237	—0,135	0,184	+0,012	0,1100	—0,495
1	o	Hb	0,280		0,111		0,1375	
2	L+M(190)	—	0,134		0,191		0,0660	
3	L+M(190)	Hb	0,337	—0,077	0,190	—0,015	0,1815	—0,022
1	o	Hb	0,280		0,111		0,1375	
2	L+N	—	0,122		0,292		0,0880	
3	L+N	Hb	0,310	—0,052	0,319	+0,013	0,1375	—0,0880

Bei der Urobilinogenzunahme ist der Absorptionswert für Pepsin-Salzsäure + Urobilinogenreagenz (0,097) berücksichtigt.

Geringe Bilirubinvermehrung bei Milz allein. Bei den Versuchen mit Milz Urobilinogenabbau, bei den anderen Vermehrung.

Vers. 6: 12 ccm Krebslösung pH 7,2; Zeit: 3 Std. Temp. 38 °;
L = 500 mg Leber-; N = 400 mg Nieren-;
M = 185 mg Milzgewebsschnitte; Hb = Hämoglobin.

	Organ	Zusatz	mg% Urobilinogen	Ug-Zunahme
1	o	Hb	0,149	
2	L	—	0,140	
3	L	Hb	0,237	+0,045
1	o	Hb	0,149	
2	N	—	0,152	
3	N	Hb	0,244	+0,040
1	o	Hb	0,149	
2	M	—	0,149	
3	M	Hb	0,174	—0,027
1	o	Hb	0,149	
2	L+M	—	0,190	
3	L+M	Hb	0,215	—0,027

Absorptionswert für HCl-Pepsin + Ug-Reagenz (0,097) berücksichtigt.

In den Versuchen mit Milz Urobilinogenabnahme. Bei Leber und Niere Vermehrung.

Vers. 7: 12 ccm Krebslösung pH 7,2; Zeit: 3 Std. Temp. 38 °;
L = 500 mg Leber-; N = 400 mg Nieren-;
M = 170 mg Milzgewebsschnitte; Hb = Hämoglobin.

	Organ	Zusatz	Hb mg%	Zunahme	Ug mg%	Zunahme	Bilir. mg%	Zunahme
1	o	Hb	0,328		0,137		0,1815	
2	M	—	0,071		0,131		0,0660	
3	M	Hb	0,377	—0,022	0,125	—0,046	0,2585	+0,011
1	o	Hb	0,328		0,137		0,1815	
2	N	—	0,114		0,146		0,0880	
3	N	Hb	0,297	—0,145	0,222	+0,036	0,1815	—0,088
1	o	Hb	0,328		0,137		0,1815	
2	L+M+N	—	0,149		0,310		0,1100	
3	L+M+N	Hb	0,398	—0,079	0,367	+0,017	0,2585	—0,033
1	o	Hb	0,328		0,137		0,1815	
2	L+N	—	0,114		0,237		0,1595	
3	L+N	Hb	0,292	—0,150	0,337	+0,060	0,2090	—0,132
1	o	Hb	0,328		0,137		0,1815	
2	M+N	—	0,134		0,215		0,1100	
3	M+N	Hb	0,328	—0,134	0,276	+0,021	0,1953	—0,0962

Bei den Werten für die Urobilinogenzunahme ist der Wert 0,097 wie in den obigen Versuchen berücksichtigt.

Bilirubinvermehrung bei Milz. Urobilinogenabnahme bei Milz, während bei den anderen Organen eine Zunahme feststellbar ist.

Vers. 8: 12 ccm Krebslösung pH 7,2; Zeit: 3 Std. Temp. 38 °; L = 500 mg Leber-; M = 300 mg Milzgewebsschnitte.

	Organ	Zusatz	Bilirubin mg% (0,05 HCl 30% + 200 mg Pepsin)	Bilirubin-Zunahme
1	o	Hb	0,209	
2	L+M	—	0,088	
3	L+M	Hb	0,330	+0,033

Bilirubinvermehrung nach Behandlung mit Pepsin-Salzsäure.

Vers. 9: 12 ccm Krebslösung pH 7,2; Zeit: 3 Std. Temp. 38°; Hämoglobin nach Erwärmen auf 70 ° mit 3 % Wasserstoffperoxyd entfärbt.
L = 500 mg Leber-; M = 400 mg Milzgewebsschnitte.

	Organ	Zusatz	Bilirubin mg%	Bilirubin-Zunahme
1	o	Hb	—	
2	L+M	—	0,1805	
3	L+M	Hb	0,2805	+0,099

Vers. 10: Versuchsbedingungen wie in Versuch 9.
Leber 1500 mg, Milz 400 mg Gewebsschnitte.

	Organ	Zusatz	Bilirubin mg%	Bilirubin-Zunahme
1	o	Hb	—	
2	L+M	—	0,2090	
3	L+M	Hb	0,3080	+0,099

Die größere Lebermenge im Vergleich zu Versuch 9 scheint ohne Einfluß zu sein.

Vers. 11: Versuchsbedingungen wie in Versuch 9.
M = 900 mg Milz-; K.M. = 640 mg Knochenmarkgewebsschnitte.

	Organ	Zusatz	Bilirubin mg%	Bilirubin-Zunahme
1	o	Hb	—	
2	M	—	0,2585	
3	M	Hb	0,3300	+0,0715
1	o	Hb	—	
2	K. M.	—	0,066	
3	K. M.	Hb	0,066	—

Die letzten Versuche zeigen, daß Milz in der Lage ist, aus entfärbtem Hämoglobin Bilirubin zu bilden. Andere Gewebe, wie z. B. Knochenmark, waren dazu nicht imstande.

Zusammenfassung.

Es wird über Untersuchungen berichtet über den Abbau von Hämoglobin mit Organbreien oder überlebenden Organgewebsschnitten:

I. In Versuchen mit Verwendung von Organbreien konnte gezeigt werden:
1. daß Hämoglobin abgebaut wird von Leber-, Milz- und Nierenbrei;
2. daß Urobilinogen nur nach Behandlung mit Pepsin-Salzsäure nachgewiesen werden kann und eine Mengenabnahme zeigt;
3. daß Urobilin nicht nachgewiesen werden kann;
4. daß Bilirubin sowohl vor als auch nach Pepsin-Salzsäure-Behandlung eine Mengenabnahme zeigt.

II. In Versuchen mit überlebenden Gewebsschnitten konnte gezeigt werden:
1. daß Hämoglobin abgebaut wird von Leber-, Milz-, Niere-, Lunge- und Peritonaeum-Schnitten;
2. daß mit überlebenden Milzschnitten eine Abnahme des Urobilinogens (nach Pepsinbehandlung und Messung im Stufenphotometer), mit anderen Organen eine Zunahmen des Urobilinogens festzustellen ist;
3. daß Urobilin nicht nachgewiesen werden kann;
4. daß Milzschnitte des öfteren eine Bilirubinvermehrung erkennen lassen;
5. daß Organschnittkombinationen von Milz, Leber und Niere nach Pepsinbehandlung Bilirubinzunahme ergeben;
6. daß Milzschnitte bei Verwendung einer Hb-Lösung, die nach Erwärmen auf 70° mit Wasserstoffperoxyd entfärbt wurde, in mehreren Versuchen eine Bilirubinzunahme ergaben.

Die verschiedenen Versuche sprechen dafür, daß der Blutfarbstoff in den verschiedensten Geweben abgebaut werden kann.

Da in Milzversuchen Urobilinogen abgebaut und Bilirubin gebildet wird, spielt vielleicht das Urobilinogen (oder ein ähnlicher Stoff) als Zwischenstufe bei der Bilirubinbildung eine Rolle.

Da nur in Versuchen mit Milz (bzw. mit Milz in Kombination mit anderen Organen) Bilirubin gebildet wird, scheint die Milz eine ausschlaggebende Rolle bei der Bilirubinbildung zu spielen. Da die Milz imstande zu sein scheint, sowohl aus unverändertem, als auch aus mit Wasserstoffperoxyd abgebautem Blutfarbstoff Bilirubin zu bilden, könnte man daran denken, daß die Milz erst eine weitgehende Veränderung am Blutfarbstoff vornehmen muß, bevor sie Bilirubin daraus bilden kann.

Die Versuche erlauben noch keine weitergehenden Schlußfolgerungen, sollen aber fortgesetzt werden.

Herrn Privatdozenten Dr. Werner Schuler sei für die Ueberlassung der Arbeit, Herrn Dr. Willi Reindel für seine freundliche Unterstützung gedankt.

D. Schrifttum.

1. L. Asher: Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Bioch. Zeitschr. 72, 416 (1916).
2. Calva-Criado: Untersuchungen über den Hämoglobinabbau durch Gewebsextrakte. Bioch. Zeitschr. 164, 61 (1925).
3. H. Th. Schreus und C. Carrie: Untersuchungen zum Gallenfarbstoffwechsel. Kli. Wo. 47, 1670 (1934).
3. E. v. Balogh: Bilirubinbildung in Gewebskulturen. Zentralbl. f. allg. Pathologie und pathol. Anatomie, 26, 118 (1931).
5. R. Duesburg: Über die biologischen Beziehungen des Hämoglobins zu Bilirubin und Hämatin bei normalen und pathol. Zuständen des Menschen. Archiv f. exp. Pathol. und Pharm. 174, 305 (1934).
6. K. Bingold: Hämolyse, Blutfarbstoffumbau, Blutfarbstoffzerstörung und Blutfarbstoffschutz. Fol. Hämatol. 42, 192 (1930.
   — — Über den Blutfarbstoffabbau. Kli. Wo. 19, 866 (1929).
   — — Blutfarbstoffvernichtende Bakterien. Zentralbl. f. Bakt., Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten, 119, 97 (1930).
7. R. Virchow: Virch. Arch, 1, 379 (1847).
8. O. Minkowski und B. Naunyn: Archiv f. exp. Path. u. Pharm. 21,1 (1886).
9. L. Aschoff: Über die Bildungs- u. Ausscheidgs.-Störungen der gallenf. Subst., bes. des Gallenfarbstoffes. Acta pathol. et microbiol. 1928.
10. L. Heilmeyer: Hämoglobinstoffwechsel u. Hämoglobinstoffwechselkrankheiten. Zentralbl. f. innere Med. 41 (1934).
11. E. Lauda: Das Problem der Mizhämolyse. Ergebn. d. Inn. Med. u. Kinderheilk. 34, 1 (1928).
12. Fr. v. Müller: Über Leukämien und verw. Krankh. M. M. W. 11, 441 (1931).
13. H. Fischer: Hämin, Bilirubin und Porphyrine. Ergebn. d. Physiol. 15, 185 (1916).
   — — Synthese des Hämins. M. M. W. 1, 401 (1929).
14. R. Nothaas u. F. Widenbauer: Beziehungen zwischen Blutfarbstoff und Harnfarbstoff. Zeitschr. f. d. gesamt. Exp. Med. 93, 644 (1934).

Lebenslauf.

Ich, Fritz Meyer, wurde am 6. November 1910 als Sohn des Fabrikanten Friedrich Meyer und seiner Ehefrau Sabine, geb. Wutz, in Nürnberg geboren und auf das evangelische Glaubensbekenntnis getauft. Von 1917 bis 1921 besuchte ich die Volksschule in Nürnberg, um dann in die Real- und 1927 in die Oberrealschule überzutreten. Im Jahre 1930 legte ich die Reifeprüfung ab und begann in Erlangen mein Medizinstudium. 1932 machte ich das Physikum und im Herbst 1935 das med. Staatsexamen. Anschließend trat ich in das Reichsheer ein und wurde am 1. Mai 1936 zum Unterarzt befördert.